УДК 575:599.32(571.65)

С. В. Курышев

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО СХОДСТВА В ПОПУЛЯЦИЯХ КРАСНОЙ И КРАСНО-СЕРОЙ ПОЛЕВОК

В популяционных и таксономических исследованиях последних лет все шире используются нетрадиционные нумерические методы. Это, в свою очередь, требует поисков надежных и по возможности простых критериев, посредством которых можно было бы численно выразить отношения таксонов разных рангов, в том числе и внутрипопуляционных групп. Нередко исследования такого рода заключаются в изучении генетических различий между группами по частотам дискретных вариантов (морф) каких-либо признаков (аллелей, генотипов, фенотипов, градаций количественных признаков и т. п.), а в качестве численных критериев используются разнообразные меры генетического сходства или расстояния. К настоящему времени известно довольно много таких мер. Анализ их применимости к решению различных задач проводился неоднократно. В качестве примера сошлемся лишь на две работы — Нея' (1982) и Пасекова (1983). Однако большинство подобных исследований выполнено математиками, и нужна солидная математическая подготовка, чтобы, основываясь на этих работах, избрать критерий, адекватный данным целям. Единственный доступный для нематематика путь — сравнение ряда показателей на природном материале с заранее известным таксономическим отношением объектов, находящихся в различных экологических условиях. Именно такое сравнение и является задачей настоящей статьи, а конечная цель заключается в выборе оптимального критерия как для решения популяционно-экологических задач, так и в оценке возможностей использования его в таксономических исследованиях.

Материал собирали в 1980—1983 гг. в окр. г. Магадана, на западной Чукотке (окр. пос. Омолон) и в северо-восточной Якутии (р. Алазея). Исследовали два вида — красная (*Clethrionomus rutilus* Pall.) и красно-серая (*C. rufocanus* Sund.) полевки. В общей сложности обработано более 1800 животных. Методом электрофореза гомогенатов мышц в вертикальных блоках полиакриламидного геля изучали распределение генотипических и аллельных частот примерно 30 ферментных локусов. Большинство из них оказались мономорфными. Хотя наибольший вклад в генетические расстояния между видами вносят именно мономорфные локусы, фиксированные по различным аллелям, мы не учитывали их в расчетах, если мономорфизм отмечался у обоих видов, поскольку использование только полиморфных локусов ярче демонстрирует диагностические возможности анализируемых критериев. Всего было исследовано пять ферментных систем: лактатдегидрогеназа (два локуса — LDH-A и LDH-B), 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (один локус — 6-PGD), супероксиддисмутаза (один локус — SOD), эстераза Д (локус EsD) и глутамат-оксалаттрансаминаза (локус GOT). Для выявления ферментов гелевые блоки после электрофореза окрашивали по общепринятым методикам (Harris, Hopkinson, 1976; Корочкин и др., 1977) с нашими модификациями. У красной полевки в локусах LDH-A и GOT частоты главных аллелей превышают 99 %, но остальные локусы высокополиморфны (табл. 1). У красно-серой полевки три локуса — LDH-B, SOD и GOT мономорфны, а три других — полиморфны. На основании полученных данных по сумме локусов рассчитаны широко применяемые показатели генетического сходства или расстояния по Роджерсу, Нею и Животовскому.

Генетическое расстояние по Роджерсу выражается следующей формулой (Rogers, 1972):

$$D_R = \frac{1}{m} \Sigma \sqrt{\Sigma (X_{ij} - Y_{ij})^2/2},$$

где m — число исследованных локусов; X_{ij} и Y_{ij} частоты морф в выборках.

Генетическое расстояние по Нею (Nei, 1972) выражается как $D_N = -\ln I_N$, а

$$I_N = \frac{\frac{1}{r} \Sigma\Sigma X_{ij} Y_{ij}}{\sqrt{(\Sigma\Sigma X_{ij}^2 \, \Sigma\Sigma Y_{ij}^2)/r^2}},$$

где I_N — генетическое сходство, X_{ij} и Y_{ij} — частоты i-тых аллелей j-того локуса в популяциях X и Y соответственно, а r — число изученных локусов.

Наконец, генетическое сходство по Животовскому (1983) определяется формулой: $r = \sum_{i=1}^{m} \sqrt{p_i q_i}$,

где p_i и q_i — частоты морф в сравниваемых выборках. Для случая L локусов среднее сходство популяций на основе показателя r определяется как среднеарифметическое $\bar{r} = (r_1 + \ldots r_L)/L$.

Для показателя r предложен критерий идентичности I, позволяющий оценить значимость различий между выборками без обращения к X^2 критерию:

$$I = \frac{N_1 N_2}{N_1 + N_2} \left(1 - r - \frac{P_0 N_1 + P_0 N_2}{2(N_1 + N_2)}\right),$$

где N_1 и N_2 — рāзмеры выборок, P_0 — суммарная частота морф первой выборки, не представленных во второй; q_0 — суммарная частота морф второй выборки, не представленных в первой. Величина I распределена как χ^2 с m—1 степенями свободы. Критерий идентичности для $\bar{r}$ равен $_\Sigma = I_1 + \ldots + I_L$ и проверяется на значимость по таблице χ^2 с суммарным числом степеней свободы $m_1 + \ldots m_L$—L.

Популяции красной и красно-серой полевок подвержены периодическим колебаниям численности, которые сопровождаются изменениями генетической структуры. В табл. 1 для магаданских популяций показаны минимальные и максимальные значения частот главных аллелей, наблюдавшиеся нами на разных фазах популяционного цикла. Якутская и чукотская популяции облавливались однократно, поэтому частоты известны лишь на момент отлова. Для расчетов были использованы выборки из магаданских популяций красной полевки, сделанные в октябре 1980 г. и в октябре 1981 г. и красно-серой полевки, сделанные в октябре 1980 г. и в июле 1982 г., а также объединенные данные за весь период

Таблица 1. Частоты главных аллелей исследованных локусов (для магаданских популяций даны частоты аллелей, вычисленные по совокупности выборок за весь период исследований; в скобках — максимальные и минимальные значения)

Аллель	Красная полёвка			Красно-серая полёвка
	Магадан n=893	Якутия n=26	Чукотка n=104	Магадан n=865
LDH-A	0,9983 (1,0—0,9912)	1,0	1,0	0,9850 (1,0—0,9500)
LDH-B	0,8018 (0,8567—0,6696)	0,9038	0,9038	1,0
6-PGD	0,7304 (0,8482—0,6719)	0,7838	0,7115	0,9444 (1,0—0,9028)
SOD	0,9335 (0,9688—0,9018)	0,9567	0,9231	1,0
Es D	0,9617 (1,0—0,9504)	0,9375	1,0	0,9905 (1,0—0,9787)
GOT	0,9923 1,0—0,9062)	1,0	1,0	1,0

исследований. При расчетах нас интересовало, как отражаются изменения генетической структуры на исследуемых критериях.

Изученные виды довольно близки таксономически и вместе с тем хорошо различаются морфологически. Классическими методами показано (Чернявский, 1984), что на всей исследованной нами территории обитает единственный подвид красной полевки — *Clethrionomys rutilus jochelsoni* J. Allen, 1903 и единственный же подвид красно-серой полевки — *C. rufocanus wosnessenskii* Polikov, 1881. Клинальная изменчивость подвидов выражена слабо.

Таким образом, применимость критериев проверялась нами на следующих рангах модельных популяций: 1) хорошо различимые виды; 2) географические популяции одного подвида и 3) одни и те же популяции, но имеющие различающийся генетический состав.

Требования, которые мы предъявили к оптимальному критерию сводятся к трем:

1) Показатель должен иметь широкий размах вариаций как при внутри-, так и при межвидовых сравнениях, но его значения в этих двух случаях не должны перекрываться. Выполнение этого требования позволит дифференцировать даже близкие популяции.

2) Показатель должен быть способен дифференцировать популяции и виды не только по аллельным частотам, но и по другим формам изменчивости. Большинство показателей генетического сходства и расстояния основываются на количестве генных замещений в ходе эволюции, и поэтому используют при расчетах именно частоты аллелей. Однако в популяционных исследованиях нередко приходится иметь дело с дискретными признаками, имеющими полигенную природу. Пытаясь приблизиться к таким признакам, мы, не слишком искажая биологический смысл показателей Роджерса и Нея, использовали эти критерии для сравнения популяций по частотам не только аллелей, но и генотипов;

3) Показатель должен иметь статистически сравнимую форму, то есть мы должны иметь возможность определить достоверность выявленных различий по какому-либо статистическому критерию, а также при необходимости — вычислить выборочную ошибку показателя.

Полученные в результате вычислений значения показателя Роджерса приведены в табл. 2. Как видно, внутривидовые сравнения по аллельным частотам дали предельные значения D_R равные 0,005 и 0,069, то же при межвидовых сравнениях — 0,189 и 0,382. Генотипические частоты также показали удовлетворительные результаты. Пределы, в которых

Таблица 2. Генетические расстояния по Роджерсу (D_R; над диагональю значения, вычисленные по аллельным частотам, под диагональю — по генотипическим)

	Красная полёвка					Красно-серая полёвка		
	Магадан			Якутия	Чукотка	Магадан		
	Сумма 1980—1983 гг. n=893	Октябрь 1980 г. n=109	Октябрь 1981 г. n=32	1981 г. n=104	1983 г. n=26	Сумма 1980—1983 гг. n=865	Октябрь 1980 г. n=80	Июль 1982 г. n=60
	1	2	3	4	5	6	7	8
1		0,048	0,039	0,040	0,028	0,358	0,292	0,189
2	0,062		0,069	0,020	0,054	0,271	0,279	0,257
3	0,106	0,135		0,067	0,059	0,344	0,281	0,340
4	0,071	0,051	0,135		0,035	0,367	0,296	0,364
5	0,077	0,107	0,112	0,064		0,382	0,328	0,378
6	0,381	0,300	0,401	0,401	0,419		0,013	0,005
7	0,327	0,312	0,375	0,345	0,384	0,020		0,014
8	0,208	0,288	0,393	0,392	0,409	0,012	0,028	

Таблица 3. Генетические расстояния по Нею (D_N; над диагональю — значения, вычисленные по аллельным частотам, под диагональю — по генотипическим)

	Красная полёвка					Красно-серая полёвка		
	Магадан			Якутия	Чукотка	Магадан		
	Сумма 1980—1983 гг. n=893	Октябрь 1980 г. n=109	Октябрь 1981 г. n=32	1981 г. n=104	1983 г. n=26	Сумма 1980—1983 гг. n=865	Октябрь 1980 г. n=80	Июль 1982 г. n=60
	1	2	3	4	5	6	7	8
1		0,004	0,002	0,003	0,003	0,092	0,119	0,091
2	0,006		0,009	0,001	0,003	0,122	0,121	0,121
3	0,029	0,053		0,008	0,008	0,084	0,110	0,082
4	0,011	0,006	0,035		0,002	0,110	0,140	0,109
5	0,015	0,022	0,027	0,007		0,127	0,019	0,124
6	0,134	0,014	0,194	0,139	0,046		0,001	0,001
7	0,170	0,020	0,272	0,180	0,076	0,001		0,001
8	0,126	0,008	0,181	0,133	0,036	0,001	0,002	

колебался D_R при внутривидовых сравнениях составляли 0,012—0,135, а при межвидовых — 0,208—0,419.

Генетические расстояния по Нею вычислялись нами также с использованием аллельных и генотипических частот (табл. 3). Пределы, в которых колебались значения D_N при сравнении различных и одних и тех же популяций на разных фазах цикла по аллельным частотам составляли 0,001—0,009, а при сравнении видов 0,019—0,140. Генотипические частоты дали, соответственно, величины 0,001—0,035 и 0,008—0,272, т. е. при использовании генотипических частот значения D_N во внутри- и межвидовых сравнениях значительно перекрываются.

Показатель генетического сходства Животовского (табл. 4) продемонстрировал наибольший размах колебаний при использовании аллельных частот в межвидовых сравнениях (0,667—0,828), внутривидовые колебания были сравнительно невелики — 0,979—0,999. Соответствующие величины для генотипов составили 0,623—0,724 и 0,956—0,995.

Таблица 4. Генетическое сходство по Животовскому (над диагональю — значения, вычисленные по аллельным частотам, под диагональю — по генотипическим)

	Красная полёвка					Красно-серая полёвка		
	Магадан			Якутия	Чукотка	Магадан		
	Сумма 1980—1983 гг. n=893	Октябрь 1980 г. n=109	Октябрь 1981 г. n=32	1981 г. n=104	1983 г. n=26	Сумма 1980—1983 гг. n=865	Октябрь 1980 г. n=80	Июль 1982 г. n=60
	1	2	3	4	5	6	7	8
1		0,996	0,992	0,994	0,992	0,710	0,811	0,715
2	0,989		0,993	0,997	0,990	0,811	0,807	0,816
3	0,971	0,970		0,979	0,980	0,723	0,828	0,727
4	0,985	0,988	0,956		0,992	0,687	0,781	0,692
5	0,978	0,978	0,958	0,981		0,667	0,745	0,671
6	0,652	0,719	0,649	0,647	0,623		0,995	0,999
7	0,723	0,710	0,708	0,724	0,672	0,992		0,995
8	0,655	0,721	0,657	0,656	0,628	0,995	0,990	

Проведенный анализ показывает, что среди использованных индекс Нея наименее пригоден в качестве универсального критерия при внутри- и межвидовых сравнениях. Использование аллельных частот в расчетах дает слишком близкие величины для одних и тех же и разных видов, а генотипические частоты — даже перекрывающиеся. Критерий Роджерса в нашем случае показал довольно хорошие результаты и более всего — при использовании генотипических частот.

Наиболее универсальным оказался индекс Животовского. Хотя пределы, в которых он изменялся при меж- и внутривидовых сравнениях были несколько меньше, чем у показателя Роджерса, использование критерия идентичности позволяет определить степень достоверности выявленных различий по таблице χ^2. Кроме того, математический аппарат, разработанный Животовским, предусматривает вычисление выборочной ошибки показателя. Таким образом, эти параметры позволяют однозначно интерпретировать полученные данные, чего нельзя сказать о других рассмотренных показателях. Кроме названных преимуществ, показатель Животовского обладает еще одним, весьма важным — его можно применять, используя не только электрофоретические, но и другие признаки, как количественные, так и качественные. К сожалению, в нашем распоряжении нет материалов по изменчивости морфологических (фенетических) или количественных признаков, на основании которых можно было бы проанализировать обсуждаемый критерий.

Проведенный нами краткий анализ показал, что в наибольшей степени предъявленным требованиям отвечает показатель Животовского. Именно его можно рекомендовать для популяционно-экологических и, возможно, таксономических исследований мелких грызунов как обладающего наибольшей разрешающей способностью и корректностью. Для выяснения границ применимости критерия в таксономических целях следует провести сравнение также на модельных объектах и других рангов — близких видах, разных подвидах одного вида, видах с непрерывным ареалом. Однако это требует проведения дополнительных исследований. В то же время, мы не можем игнорировать того, что индекс Нея широко используется в современной литературе и многими авторами признается наилучшим. Вероятно дальнейшее изучение возможностей критерия Животовского внесет ясность в этот вопрос.

Животовский Л. А. Статистические методы анализа частот генов в природных популяциях // Итоги науки и техники. ВИНИТИ АН СССР. Общая генетика.— 1983.— Вып. 8.— С. 76—104.

Корочкин Л. И., Серов О. Л., Пудовкин А. И. и др. Генетика изоферментов.— М. : Наука, 1977.— 275 с.

Ней М. Генетические расстояния и молекулярная таксономия // Вопр. общей генетики.— М. : Наука, 1982.— 275 с.

Пасеков В. П. Генетические расстояния // Итоги науки и техники. ВИНИТИ АН СССР. Общая генетика.— 1983.— Вып. 8.— С. 3—75.

Чернявский Ф. Б. Млекопитающие крайнего северо-востока Сибири.— М. : Наука, 1984.— 385 с.

Harris H., Horkinson D. A. Handbook of enzyme electrophresis in human genetics.— N. Y.: North-Holland Publ. Co., 1976.— 310 p.

Nei M. Genetic distance between populatios // Amer. Natur.— 1972.— 106, N 949.— P. 283—292.

Rogers J. S. Measures of genetic similarity and genetic distance // Studies in genetics. Univ. of Texas publ.— 1972.— N 7213.— P. 145—153.

Институт биологических проблем Севера
ДВНЦ АН СССР (Магадан)

Получено 02.02.87